

ОСОБЕННОСТИ СУБПОПУЛЯЦИЙ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК У ПАЦИЕНТОВ ПРИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ПОЧКИ

ЗЫБЛЕВА С.В., ЗЫБЛЕВ С.Л.

Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, г. Гомель, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2020. – Том 19, №3. – С. 96-105.

THE PECULIARITIES OF DENDRITIC CELLS SUBPOPULATIONS IN PATIENTS ON KIDNEY TRANSPLANTATION

ZYBLEVA S.V., ZYBLEV S.L.

Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2020;19(3):96-105.

Резюме.

Цель – изучить динамику субпопуляций дендритных клеток у пациентов после трансплантации почки в раннем послеоперационном периоде.

Материал и методы. Обследовано 197 пациентов, которым была выполнена трансплантация почки. Все пациенты разделены на 3 группы. Первая группа (ПФТ, n=101) – пациенты с удовлетворительной первичной функцией трансплантата без эпизодов отторжения, вторая группа (ДФТ, n=82) – пациенты с первичной дисфункцией трансплантата без эпизодов отторжения, третья группа (ОПТ, n=14) – пациенты с первичной дисфункцией трансплантата и отторжением, верифицированным на основании биопсии почечного трансплантата. В качестве группы сравнения (ГС) участвовало 90 здоровых добровольцев. Функция трансплантата оценивалась по следующим критериям: первичная функция трансплантата характеризовалась при уровне креатинина на 7 сутки после операции ниже 300 мкмоль/л; при концентрации креатинина, равной или превышающей 300 мкмоль/л, и(или) при необходимости в проведении диализа на первой неделе после трансплантации состояние классифицировалось как дисфункция почечного трансплантата. Иммунологическое обследование пациентов проводилось перед операцией, на 1-е, 3-и и 7-е сутки после операции. Определяли уровень $\text{LIN}^+\text{HLA-DR}^+\text{CD11c}^+\text{CD123}^-$ (миелоидные DC) и $\text{LIN}^+\text{HLA-DR}^+\text{CD11c}^+\text{CD123}^+$ (плазматцитоидные DC).

Результаты. Отмечен рост абсолютного и относительного показателя общего количества DC, а также абсолютных значений количества миелоидных и плазматцитоидных DC в группе реципиентов с ПФТ с третьих по седьмые сутки посттрансплантационного периода, в то время как в группе ОПТ наблюдалось снижение уровня данных клеток с третьих суток.

Заключение. Оценка уровня миелоидных и плазматцитоидных дендритных клеток у реципиентов почечного трансплантата расширяет возможности лабораторного мониторинга в раннем посттрансплантационном периоде с целью своевременной корректировки проводимой иммуносупрессивной терапии.

Ключевые слова: $\text{LIN}^+\text{HLA-DR}^+\text{CD11c}^+\text{CD123}^-$, $\text{LIN}^+\text{HLA-DR}^+\text{CD11c}^+\text{CD123}^+$, трансплантация почки.

Abstract.

Objectives. To study the dynamics of dendritic cells subpopulations in patients after kidney transplantation in the early postoperative period.

Material and methods. We have examined 197 patients who underwent kidney transplantation. All patients were divided into 3 groups. The first group (PGF, n=101) consisted of patients with satisfactory primary graft function without rejection episodes, the second group (PGD, n=82) included patients with primary graft dysfunction without rejection episodes, the third group (GR, n=14) was composed of patients with primary graft dysfunction and graft rejection verified on the basis of renal transplant biopsy. A comparison group (CG) consisted of 90 healthy volunteers. Graft function was assessed according to the following criteria: primary graft function was characterized by creatinine level below 300

$\mu\text{mol/l}$ on the 7th day after surgery; when creatinine concentration was equal to or higher than $300 \mu\text{mol/l}$ and (or), in case of need for dialysis during the first week after transplantation, the state was classified as kidney graft dysfunction. Immunological examination of patients was carried out before the transplantation, and on the 1st, the 3rd and the 7th days after the transplantation. The levels of $\text{LIN}^+\text{HLA-DR}^+\text{CD11c}^+\text{CD123}^-$ (myeloid DC) and $\text{LIN}^+\text{HLA-DR}^+\text{CD11c}^+\text{CD123}^+$ (plasmacytoid DC) were determined.

Results. We have noted an increase in the absolute and relative indicator of the total number of DC, as well as absolute values of the number of myeloid and plasmacytoid DCs in the group of recipients with PGF from the third to the seventh day of the post-transplantation period. While in the GR group, a decrease in the level of these cells beginning with the third post-transplantation day was observed.

Conclusions. The assessment of the myeloid and plasmacytoid dendritic cells level in kidney transplant recipients widens the possibilities of laboratory monitoring in the early post-transplantation period with the purpose of timely adjustment of the provided immunosuppressive therapy.

Key words: $\text{LIN}^+\text{HLA-DR}^+\text{CD11c}^+\text{CD123}^-$, $\text{LIN}^+\text{HLA-DR}^+\text{CD11c}^+\text{CD123}^+$, kidney transplantation.

Дендритные клетки (DC) – это высокоэффективные антигенпрезентирующие клетки, представляющие гетерогенную клеточную популяцию. С учетом поверхностных маркеров и основных функций различают субпопуляции миелоидных DC (mDC) с поверхностным фенотипом $\text{CD11c}^+\text{CD123}^{\text{low}}$ и плазмацитоидных DC (pDC) с фенотипом $\text{CD11c}^+\text{CD123}^{\text{high}}$ [1].

Миелоидные DC имеют мощный потенциал для захвата и презентации антигенов, что позволяет им эффективно стимулировать Т-клетки. Плазмацитоидные DC отличаются низкой экспрессией молекул главного комплекса гистосовместимости II класса (по сравнению с mDC), слабой способностью к стимуляции Т-лимфоцитов, однако обладают свойством продуцировать большое количество $\text{IFN}\alpha$ и $\text{IFN}\beta$ при воздействии на них вирусными компонентами [2, 3].

В контексте трансплантации органов, роль DC изучалась рядом авторов и те DC, что способствуют приживлению трансплантата, рассматриваются как толерогенные, а те, что индуцируют отторжение трансплантата – как иммуногенные [4, 5].

В данной статье представлены результаты изучения динамики $\text{LIN}^+\text{HLA-DR}^+\text{CD11c}^+\text{CD123}^-$ (миелоидные DC) (mDC) и $\text{LIN}^+\text{HLA-DR}^+\text{CD11c}^+\text{CD123}^+$ (плазмацитоидные DC) (pDC) при различных вариантах течения посттрансплантационного периода.

Материал и методы

Обследовано 197 пациентов, которым была выполнена трансплантация почки ГУ «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека» (Гомель)

(ГУ «РНПЦ РМиЭЧ», г. Гомель). Клиническое исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией 1975 года и одобрено комитетом по этике ГУ «РНПЦ РМиЭЧ» (протокол № 5 от 02.12.2013). Все пациенты разделены на 3 группы. Первая группа (ПФТ, $n=101$) – пациенты с удовлетворительной первичной функцией трансплантата без эпизодов отторжения, вторая группа (ДФТ, $n=82$) – пациенты с первичной дисфункцией трансплантата без эпизодов отторжения, третья группа (ОПТ, $n=14$) – пациенты с первичной дисфункцией трансплантата и отторжением, верифицированным на основании биопсии почечного трансплантата. В качестве группы сравнения (ГС) участвовало 90 здоровых добровольцев.

Функция трансплантата оценивалась по следующим критериям: первичная функция трансплантата характеризовалась при уровне креатинина на 7 сутки после операции ниже 300 мкмоль/л ; при концентрации креатинина равной или превышающей 300 мкмоль/л , и(или) при необходимости в проведении диализа на первой неделе после трансплантации состояние классифицировалось как дисфункция почечного трансплантата [6].

В исследовании участвовало 122 (61,9%) мужчин и 75 (38,1%) женщин. Средний возраст равнялся $45,9 \pm 0,9$ года [95% ДИ 44,1; 47,57]. Время холодовой ишемии составило $12,38 \pm 0,3$ часа [95% ДИ 11,8; 13,0]. Отрицательный результат прямой перекрестной пробы (cross-match) был в 100% случаев. Всем пациентам индукционная иммуносупрессивная терапия проводилась моноклональными анти-CD25-антителами двукратно по 20 мг перед операцией и на 4-е сутки после

трансплантации. Дальнейшая иммуносупрессия состояла из кортикостероидов и ингибиторов кальциневрина в сочетании с микофенолатом или азатиоприном.

Иммунологическое обследование пациентов проводилось перед операцией, на 1-е, 3-и и 7-е сутки после операции. Определяли уровень дендритных клеток LIN⁺HLA-DR⁺ с фенотипом LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁻ (миелоидные DC) (mDC) и LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺ (плазмацитоидные DC) (pDC).

Определение относительного и абсолютного количества дендритных клеток

Кровь брали из локтевой вены, в качестве антикоагулянта использовали ЭДТА. Применяли антитела: LIN PE, CD11c PC5, CD123 PC7, Anti-HLADR APC-AF750 (Beckman Coulter, США), согласно инструкции фирмы-производителя. Инкубировали 15 мин в темноте. Для лизиса эритроцитов использовали OptiLyseB. Пробы анализировали на проточном цитофлуориметре FACS Canto II (BD, США). Популяцию дендритных клеток определяли как LIN⁺Anti-HLA-DR⁺bright клетки. В зависимости от экспрессии CD11c или CD123 основной пул дендритных клеток подразделялся на плазмацитоидные (LIN⁺Anti-HLADR⁺brightCD123⁺) и миелоидные (LIN⁺Anti-HLA-DR⁺brightCD11c⁺) дендритные клетки. Накапливали до 100 000 событий в регионе ядродержащих клеток. Абсолютное значение двух типов дендритных клеток получали путем математического вычисления.

Для статистической обработки результатов исследования использовался метод числовых характеристик (Mann-Whitney U Test, Wilcoxon Matched Pairs Test) с оценкой распределения переменных. Описательная статистика количественных признаков представлены: среднее (доверительный интервал) – M [Confidence -95%; +95%], медиана (интерквартильный размах) – Me [Q25; Q75]. Уровень статистической значимости полученных результатов принят как равным или менее 0,05.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования общего количества DC в периферической крови пациентов из учаемых групп представлены в таблице 1, рисунках 1 и 2.

Перед операцией в группе ПФТ относительный уровень DC значимо превышал показате-

тель GC (Mann-Whitney U Test $p_{0ПФТ/ГСотн} = 0,011$). В группах ДФТ и ОПТ уровень DC до операции значимо не отличался с показателем GC (Mann-Whitney U Test $p_{0ДФТ/ГСотн} = 0,980$ и $p_{0ОПТ/ГСотн} = 0,163$). Абсолютное количество DC перед операцией по сравнению с показателями GC было значимо выше в группах ПФТ и ДФТ, в то время как в группе ОПТ значимой разницы с уровнем GC выявлено не было (Mann-Whitney U Test $p_{0ПФТ/ГСабс} = 0,002$, $p_{0ДФТ/ГСабс} = 0,022$, $p_{0ОПТ/ГСабс} = 0,227$).

С первых суток послеоперационного периода наблюдалось снижение относительного количества DC во всех группах, при этом значимое снижение было в группах ПФТ и ДФТ (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{0,1ПФТ} < 0,0001$, $p_{0,1ДФТ} < 0,0001$, $p_{0,1ОПТ} = 0,173$).

На третьи сутки относительный уровень DC значимо снизился в группах ПФТ и ДФТ (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{1,3ПФТ} < 0,0001$, $p_{1,3ДФТ} = 0,016$, $p_{1,3ОПТ} = 0,273$). Но в группе ОПТ, напротив, выявлен рост количества DC со значимым превышением уровня ПФТ (Mann-Whitney U Test $p = 0,002$).

На седьмые послеоперационные сутки в группе ПФТ наблюдался значимый рост уровня DC, но в группе ДФТ изменения уровня DC не было (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{3,7ПФТ} < 0,0001$, $p_{3,7ДФТ} = 0,148$). А в группе ОПТ, напротив, выявлено значимое снижение показателя DC по сравнению со значением в группах ПФТ (табл. 1, рис. 1).

Изменения абсолютного уровня DC имели ту же направленность, что и относительные значения (рис. 2).

Абсолютное значение DC в группах ОПТ и ДФТ снижалось в течение всего периода наблюдения. Однако наименьшее значение выявлено в группе ПФТ на третьи сутки. Следует отметить, что в группе ОПТ на седьмые сутки послеоперационного периода уровень DC был значимо ниже по сравнению с показателями других групп (табл. 1).

Что касается субпопуляций дендритных клеток на предтрансплантационном этапе, то у пациентов было выявлено значимое преобладание абсолютного содержания субпопуляции LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁻ mDC в группе с ПФТ относительно группы ДФТ. При сравнении предоперационного уровня LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁻ mDC в группах ПФТ и ДФТ с группой ОПТ как относительного, так и абсолютного количества значимого различия выявлено не было (табл. 2).

На первые посттрансплантационные сутки был отмечен значимый рост относительного ко-

Таблица 1 – Показатели дендритных клеток пациентов изучаемых групп (Me [Q₂₅; Q₇₅])

Сутки	Ед. изм.	Группа сравнения	ПФТ	ДФТ	ОПТ	p, Mann-Whitney U Test
0	отн х %	0,80% 0,50;1,10 0,05×10 ⁹ кл/л 0,04;0,06	1,24* 0,66;2,11	1,12 0,70;1,70	1,13 0,66;1,70	p _{ПФТ/ДФТ} =0,129 p _{ПФТ/ОПТ} =0,498 p _{ДФТ/ОПТ} =0,934
	10 ⁹ кл/л		0,108* 0,052;0,152	0,069* 0,048;0,104	0,076 0,046;0,093	p _{ПФТ/ДФТ} =0,008 p _{ПФТ/ОПТ} =0,123 p _{ДФТ/ОПТ} =0,992
1	отн х %		0,21* 0,21;0,23	0,33* 0,13;0,67	0,47 0,21;1,30	p _{ПФТ/ДФТ} =0,004 p _{ПФТ/ОПТ} =0,006 p _{ДФТ/ОПТ} =0,203
	10 ⁹ кл/л		0,022* 0,017;0,03	0,037 0,015;0,069	0,054 0,018;0,106	p _{ПФТ/ДФТ} =0,010 p _{ПФТ/ОПТ} =0,011 p _{ДФТ/ОПТ} =0,234
3	отн х %		0,16* 0,13;0,20	0,29* 0,10;0,54	0,45* 0,15;0,67	p _{ПФТ/ДФТ} <0,0001 p _{ПФТ/ОПТ} =0,030 p _{ДФТ/ОПТ} =0,510
	10 ⁹ кл/л		0,016* 0,012;0,019	0,029* 0,017;0,042	0,04 0,017;0,070	p _{ПФТ/ДФТ} <0,0001 p _{ПФТ/ОПТ} =0,020 p _{ДФТ/ОПТ} =0,445
7	отн х %		0,25* 0,21;0,30	0,29* 0,20;0,35	0,21* 0,16;0,29	p _{ПФТ/ДФТ} =0,012 p _{ПФТ/ОПТ} =0,102 p _{ДФТ/ОПТ} =0,032
	10 ⁹ кл/л		0,020* 0,016;0,028	0,020* 0,013;0,033	0,011* 0,009;0,023	p _{ПФТ/ДФТ} =0,549 p _{ПФТ/ОПТ} =0,004 p _{ДФТ/ОПТ} =0,029

Примечание: * – p<0,05 при сравнении с группой сравнения.

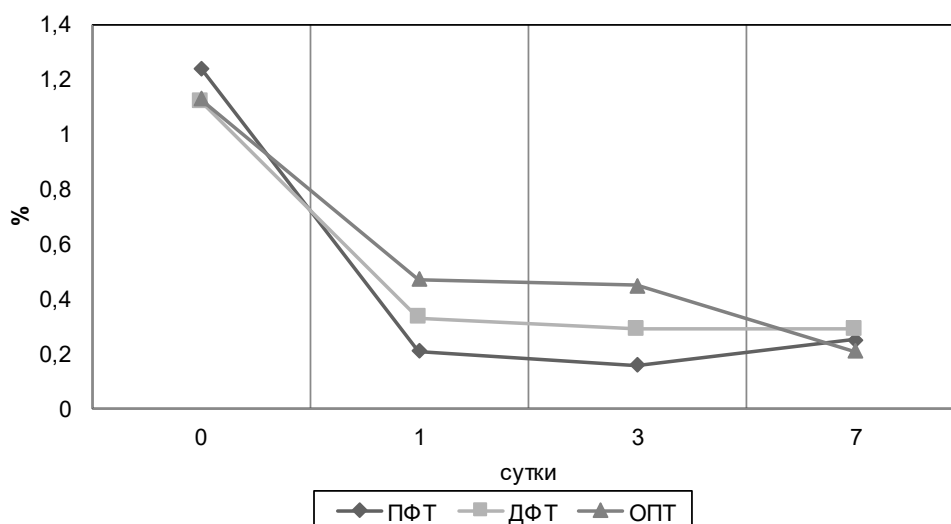


Рисунок 1 – Динамика относительного содержания дендритных клеток в посттрансплантационном периоде.

личества mDC в группе ДФТ и ОПТ (Wilcoxon Matched Pairs Test p_{ДФТ0/1отн}=0,001 и p_{ОПТ0/1отн}=0,018) (рис. 3). Следует отметить, что уровень LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺ mDC был значимо выше в

группах ОПТ и ДФТ по сравнению с показателем группы ПФТ на первые и третьи сутки. Однако существенной динамики количества mDC не отмечалось до третьих суток наблюдения (Wilcoxon

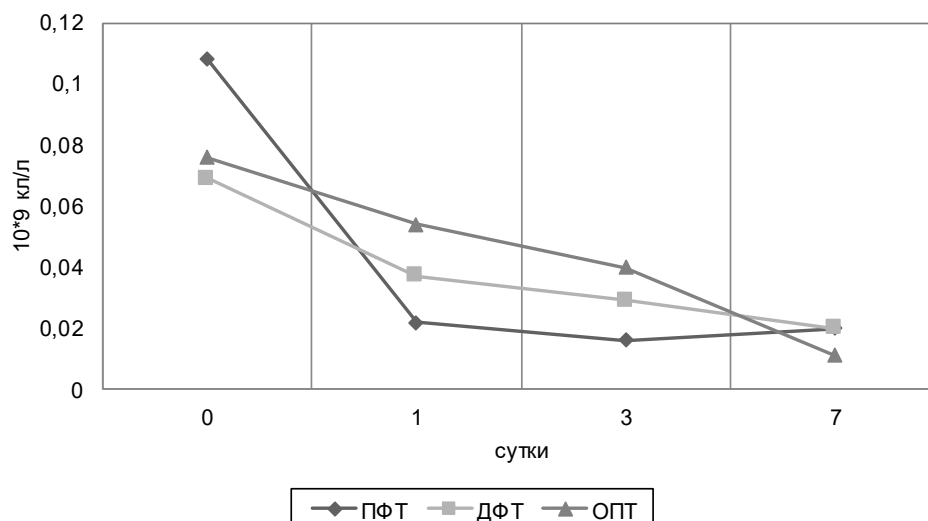


Рисунок 2 – Динамика абсолютного содержания дендритных клеток в посттрансплантационном периоде.

Таблица 2 – Показатели LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺ mDC пациентов изучаемых групп (Me [Q₂₅; Q₇₅])

Сутки	Ед. изм.	Группа сравнения	ПФТ	ДФТ	ОПТ	p, Mann-Whitney U Test
0	%	80,00% 70,80;87,80 0,05×10 ⁹ кл/л 0,04;0,06	93,54* 92,60;94,34	93,50* 89,20;96,98	92,42* 81,43;94,41	p _{ПФТ/ДФТ} =0,331 p _{ПФТ/ОПТ} =0,309 p _{ДФТ/ОПТ} =0,355
	10 ⁹ кл/л		0,101* 0,05;0,143	0,068* 0,042;0,094	0,070 0,042;0,081	p _{ПФТ/ДФТ} =0,006 p _{ПФТ/ОПТ} =0,084 p _{ДФТ/ОПТ} =0,846
1	%		93,48* 92,56;94,16	96,18* 92,22;98,68	97,80* 94,38;99,00	p _{ПФТ/ДФТ} <0,0001 p _{ПФТ/ОПТ} =0,017 p _{ДФТ/ОПТ} =0,358
	10 ⁹ кл/л		0,02* 0,016;0,028	0,041 0,022;0,074	0,069 0,018;0,101	p _{ПФТ/ДФТ} <0,0001 p _{ПФТ/ОПТ} =0,042 p _{ДФТ/ОПТ} =0,397
3	%		93,63* 92,79;94,24	95,95* 93,46;97,20	97,51* 94,70;99,31	p _{ПФТ/ДФТ} <0,0001 p _{ПФТ/ОПТ} <0,0001 p _{ДФТ/ОПТ} =0,164
	10 ⁹ кл/л		0,015* 0,011;0,018	0,028* 0,010;0,041	0,040 0,016;0,073	p _{ПФТ/ДФТ} <0,0001 p _{ПФТ/ОПТ} =0,009 p _{ДФТ/ОПТ} =0,223
7	%		91,00* 90,09;91,69	91,07* 85,39;95,94	92,90* 86,20;97,50	p _{ПФТ/ДФТ} =0,801 p _{ПФТ/ОПТ} =0,190 p _{ДФТ/ОПТ} =0,729
	10 ⁹ кл/л		0,022* 0,014;0,026	0,019* 0,012;0,030	0,011* 0,009;0,023	p _{ПФТ/ДФТ} =0,330 p _{ПФТ/ОПТ} =0,010 p _{ДФТ/ОПТ} =0,108

Примечание: * – p<0,05 при сравнении с группой сравнения.

Matched Pairs Test p_{ПФТ1/3отн}=0,180, p_{ДФТ1/3отн}=0,376, p_{ОПТ1/3отн}=0,285). Значимое снижение относительного содержания субпопуляции mDC было выявлено с третьих по седьмые посттрансплан-

тационные сутки в группах ПФТ, ДФТ и ОПТ (Wilcoxon Matched Pairs Test p_{ПФТ3/7отн}<0,0001, p_{ДФТ3/7отн}<0,0001, p_{ОПТ3/7отн}=0,018). Было выявлено, что в группе ОПТ на седьмые сутки относитель-

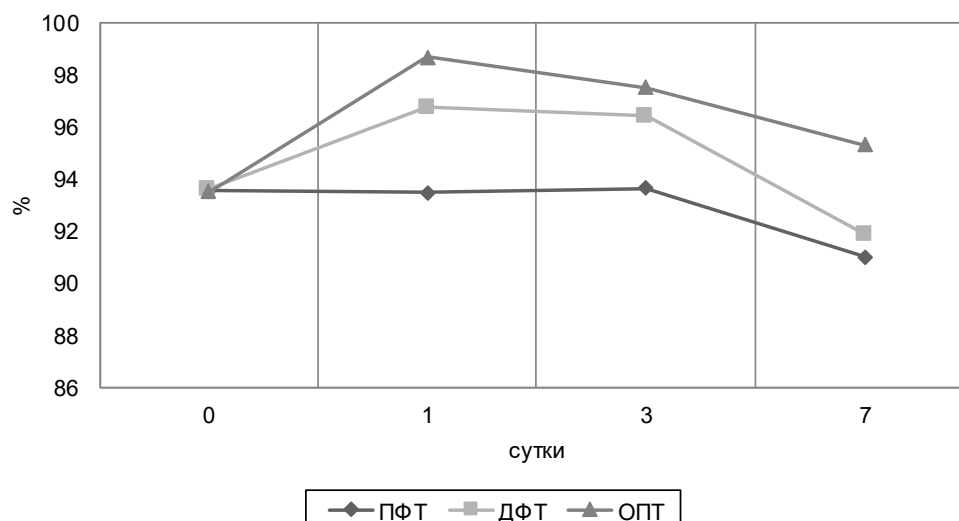


Рисунок 3 – Динамика относительного содержания LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁻ mDC.

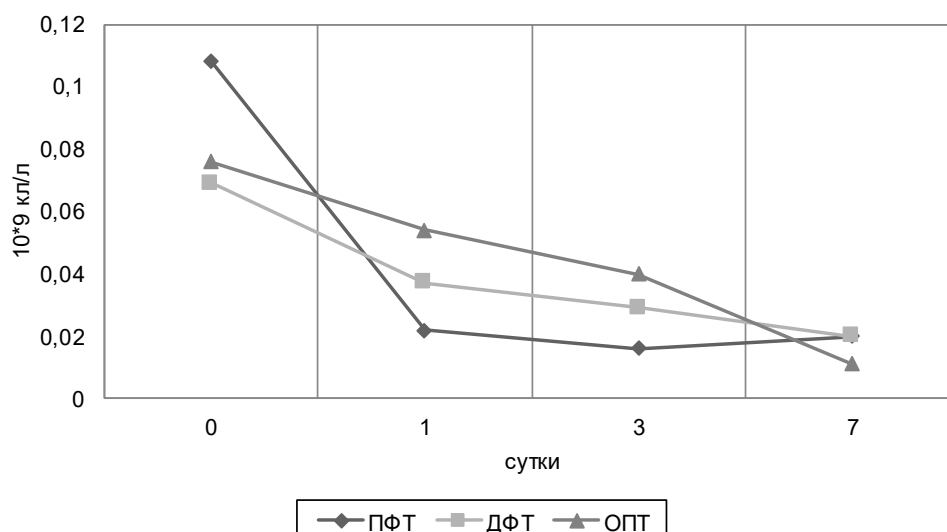


Рисунок 4 – Динамика абсолютного содержания LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁻ mDC.

ный уровень LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁻ mDC был значимо ниже, чем в группе ПФТ и ДФТ (табл. 2).

При сравнении динамики абсолютного содержания миелоидных дендритных клеток было выявлено их значимое снижение в группе ПФТ и ДФТ на первые сутки, в то время как в группе ОПТ значимого снижения не выявлено (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{\text{ПФТ0/1abc}}=0,180$, $p_{\text{ДФТ0/1abc}}=0,633$, $p_{\text{ОПТ0/1abc}}=0,735$). На третьи сутки в группе ПФТ выявлен минимальный уровень mDC, значимо меньший по сравнению с показателями групп ОПТ и ДФТ, с последующим ростом к седьмым суткам. В группе ОПТ количество mDC существенно снижалось, и к седьмым суткам наблю-

дения было значимо ниже по сравнению с показателями групп ПФТ и ДФТ (рис. 4).

Относительный и абсолютный уровень субпопуляции плазматоидных дендритных клеток LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺ pDC на дотрансплантационном этапе во всех изучаемых группах был ниже, чем в группе сравнения (табл. 3).

По результатам исследования выявлено, что в группе ПФТ к первым суткам значимой динамики относительного количества субпопуляции pDC выявлено не было, в то время как в группе ДФТ и ОПТ было отмечено значимое снижение данной субпопуляции клеток (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{\text{ПФТ0/1отн}}=0,057$, $p_{\text{ДФТ0/1отн}}=0,003$, $p_{\text{ОПТ0/1отн}}=0,018$) (рис. 5).

Таблица 3 – Показатели LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺ pDC пациентов изучаемых групп (Me [Q₂₅; Q₇₅])

Сутки	Ед. изм.	Группа сравнения	ПФТ	ДФТ	ОПТ	p, Mann-Whitney U Test
0	%	20,00% 12,20;29,20 0,01×10 ⁹ кл/л 0,007;0,012	6,46* 5,66;7,40	6,50* 3,02;10,20	7,58* 5,59;18,57	p _{ПФТ/ДФТ} =0,365 p _{ПФТ/ОПТ} =0,309 p _{ДФТ/ОПТ} =0,336
	10 ⁹ кл/л		0,007* 0,003;0,009	0,004* 0,002;0,007	0,004 0,003;0,012	p _{ПФТ/ДФТ} =0,030 p _{ПФТ/ОПТ} =0,760 p _{ДФТ/ОПТ} =0,381
1	%		6,53* 5,84;7,44	4,18* 1,32;7,78	2,20* 1,00;5,62	p _{ПФТ/ДФТ} <0,0001 p _{ПФТ/ОПТ} =0,017 p _{ДФТ/ОПТ} =0,306
	10 ⁹ кл/л		0,001* 0,001;0,002	0,001* 0,001;0,002	0,001* 0,000;0,005	p _{ПФТ/ДФТ} =0,914 p _{ПФТ/ОПТ} =0,262 p _{ДФТ/ОПТ} =0,556
3	%		6,37* 5,76;7,21	4,05* 2,80;6,54	2,49* 0,69;5,30	p _{ПФТ/ДФТ} <0,0001 p _{ПФТ/ОПТ} <0,0001 p _{ДФТ/ОПТ} =0,164
	10 ⁹ кл/л		0,001* 0,001;0,0012	0,001* 0,000;0,002	0,002* 0,000;0,002	p _{ПФТ/ДФТ} =0,996 p _{ПФТ/ОПТ} =0,588 p _{ДФТ/ОПТ} =0,895
7	%		9,00* 8,31;9,91	8,93* 4,05;14,61	7,10* 2,50;13,80	p _{ПФТ/ДФТ} =0,801 p _{ПФТ/ОПТ} =0,190 p _{ДФТ/ОПТ} =0,729
	10 ⁹ кл/л		0,002* 0,001;0,002	0,001* 0,001;0,003	0,001* 0,001;0,002	p _{ПФТ/ДФТ} =0,065 p _{ПФТ/ОПТ} =0,001 p _{ДФТ/ОПТ} =0,139

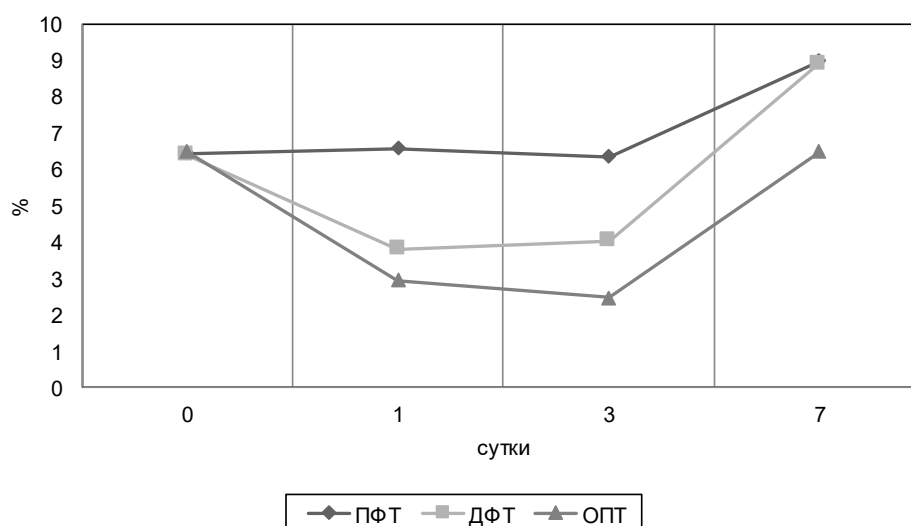
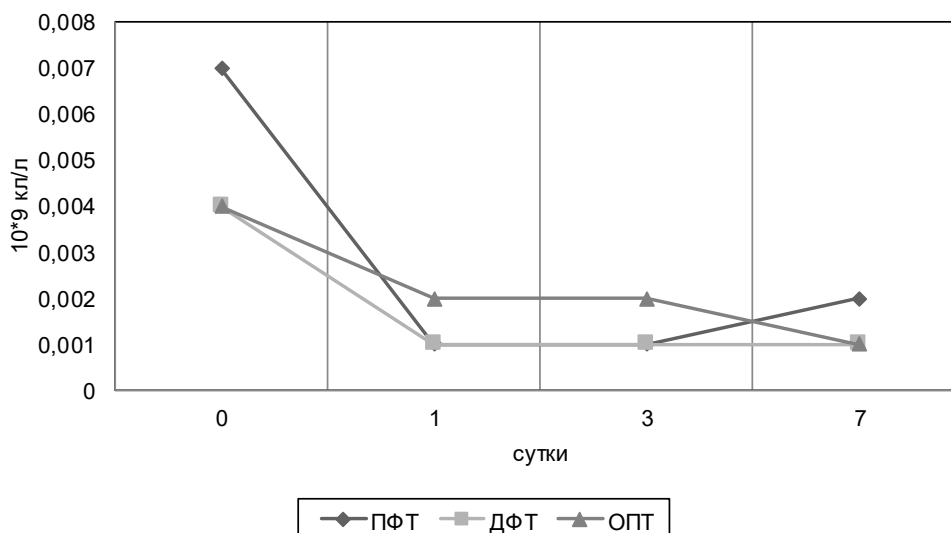


Рисунок 5 – Динамика относительного количества LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺ pDC.

Стабильное количество pDC сохранялось в группах ПФТ и ДФТ до третьих суток, а в группе ОПТ наблюдалось значимое снижение (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{\text{ПФТ1/3отн}}=0,180$, $p_{\text{ДФТ1/3отн}}=0,309$, $p_{\text{ОПТ1/3отн}}=0,018$). Однако к седьмым суткам выяв-

лен значимый рост относительного количества pDC во всех в группах (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{\text{ПФТ3/7отн}}<0,0001$, $p_{\text{ДФТ3/7отн}}<0,0001$, $p_{\text{ОПТ3/7отн}}=0,018$). Кроме того, рост абсолютного количества pDC отмечен в группах ПФТ и ДФТ, уровень которого

Рисунок 6 – Динамика абсолютного количества LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺ pDC.

был значимо выше в группе ПФТ уровня группы ОПТ (Wilcoxon Matched Pairs Test $p_{\text{ПФТ3/7абс}} < 0,0001$, $p_{\text{ДФТ3/7абс}} < 0,0001$, $p_{\text{ОПТ3/7абс}} = 0,767$) (рис. 6).

Как и на первые сутки, в течение всего периода наблюдения относительное и абсолютное количество LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺ pDC во всех группах было значимо ниже, чем в группе сравнения (табл. 3).

Как известно, дендритные клетки (DC) являются важными медиаторами врожденного и адаптивного иммунного ответа. До недавнего времени изучение этих клеток осложнялось их сходством с другими гемопоэтическими линиями, в частности моноцитами и макрофагами. Однако недавние открытия в ключевых областях биологии DC способствовали формированию новых концепций в изучении роли данных клеток в трансплантационной иммунологии [7].

Активированные миелоидные дендритные клетки (mDC) в основном участвуют в стимуляции донорных-специфических Т-лимфоцитов, в то время как плазмцитоподобные дендритные клетки (pDC) были описаны в роли индукторов толерантности при аллотрансплантации солидных органов [8, 9]. Тем не менее, по некоторым данным взаимодействие Т-клеток и pDC в селезенке способны вызвать отторжение аллотрансплантата [10]. Однако зрелые mDC являются мощными стимуляторами Т-хелперов 1-го типа и Т-цитотоксических лимфоцитов, и, следовательно, считаются доминирующими клетками в развитии острого отторжения трансплантата [11].

В исследованиях Zuidwijk K. и соавт. впер-

вые было показано, что острое отторжение почечного аллотрансплантата ассоциировано с притоком в донорский орган обеих субпопуляций дендритных клеток, как mDC, так и pDC, который связан с локальным повреждением трансплантата. Наличие в почках зрелых DC в непосредственной близости с Т-клетками во время острого отторжения предполагает локальную активацию Т-клеток в пределах трансплантата [12].

Нами была выявлена следующая закономерность. Отмечен рост абсолютного и относительного показателя общего количества DC в группе реципиентов с ПФТ с третьих по седьмые сутки посттрансплантационного периода. В группе ДФТ значимого изменения уровня DC выявлено не было. В свою очередь, в группе ОПТ наблюдалось снижение уровня данных клеток с третьих суток. Такая же динамика наблюдалась с абсолютными показателями обеих субпопуляций DC. С учетом схожих клинико-лабораторных характеристик пациентов с дисфункцией почечного трансплантата возникает необходимость дифференциальной диагностики причин нарушения функции аллографта, что непосредственно влияет на применимую тактику ведения пациентов. К 7-м посттрансплантационным суткам по характеру динамики DC и их субпопуляций в периферической крови можно судить о развивающемся иммунологическом конфликте и ориентировать иммуносупрессивную терапию в сторону усиления.

Таким образом, в результате нашего исследования определена возможность оценки количества LIN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺ mDC и

LN⁺HLA-DR⁺CD11c⁺CD123⁺ pDC у реципиентов почечного трансплантата в течение семи суток после операции в качестве дополнительного иммунологического маркера риска развития отторжения донорского органа. Кроме того, он расширяет наши знания о сложном механизме острого отторжения аллотрансплантата и прогрессирующей потере его функции.

Заключение

Оценка уровня миелоидных и плазматодендритных клеток у реципиентов почечного трансплантата расширяет возможности лабораторного мониторинга в раннем посттрансплантационном периоде с целью своевременной корректировки проводимой иммуносупрессивной терапии.

Литература

1. Liu, Y. J. IPC: Professional Type 1 interferon-producing cells and plasmacytoid dendritic cell precursors / Y. J. Liu // *Annu Rev. Immunol.* – 2005. – Vol. 23. – P. 275–306.
2. Characterization of human blood dendritic cell subsets / K. P. MacDonald [et al.] // *Blood.* – 2002 Dec. – Vol. 100, N 13. – P. 4512–4520.
3. Хоченков, Д. А. Биология дендритных клеток / Д. А. Хоченков // *Биол. мембраны.* – 2008. – Т. 25, № 6. – С.

References

1. Liu YJ. IPC: Professional Type 1 interferon-producing cells and plasmacytoid dendritic cell precursors. *Annu Rev Immunol.* 2005;23:275-306. doi: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115633
2. MacDonald KP, Munster DJ, Clark GJ, Dzionek A, Schmitz J, Hart DNJ. Characterization of human blood dendritic cell subsets. *Blood.* 2002 Dec;100(13):4512-20. doi: 10.1182/blood-2001-11-0097
3. Khochenkov DA. Dendritic cell biology. *Biol Membrany.* 2008;25(6):403-19. (In Russ.)
4. Morelli AE, Thomson AW. Tolerogenic dendritic cells and the quest for transplant tolerance. *Nat Rev Immunol.* 2007 Aug;7(8):610-21. doi: 10.1038/nri2132
5. Solari MG, Thomson AW. Human dendritic cells and transplant outcome. *Transplantation.* 2008 Jun;85(11):1513-22. doi: 10.1097/TP.0b013e318173a768
6. Cantaluppi V, Dellepiane S, Tamagnone M, Medica D, Figliolini F, Messina M, et al. Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin Is an Early and Accurate Biomarker of Graft Function and Tissue Regeneration in Kidney Transplantation from Extended Criteria Donors. *PLoS One.* 2015 Jun;10(6):e0129279. doi: 10.1371/journal.

403–419.

4. Morelli, A. E. Tolerogenic dendritic cells and the quest for transplant tolerance / A. E. Morelli, A. W. Thomson // *Nat. Rev. Immunol.* – 2007 Aug. – Vol. 7, N 8. – P. 610–621.
5. Solari, M. G. Human dendritic cells and transplant outcome / M. G. Solari, A. W. Thomson // *Transplantation.* – 2008 Jun. – Vol. 85, N 11. – P. 1513–1522.
6. Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin Is an Early and Accurate Biomarker of Graft Function and Tissue Regeneration in Kidney Transplantation from Extended Criteria Donors / V. Cantaluppi [et al.] // *PLoS One.* – 2015 Jun. – Vol. 10, N 6. – e0129279.
7. Re(de)fining the dendritic cell lineage / A. T. Satpathy [et al.] // *Nat. Immunol.* – 2012 Dec. – Vol. 13, N 12. – P. 1145–1154.
8. Colonna, M. Plasmacytoid dendritic cells in immunity / M. Colonna, G. Trinchieri, Y. J. Liu // *Nat. Immunol.* – 2004. – Vol. 5. – P. 1219–1226.
9. Gilliet, M. Human plasmacytoid-derived dendritic cells and the induction of T-regulatory cells / M. Gilliet, Y. J. Liu // *Hum. Immunol.* – 2002 Dec. – Vol. 63, N 12. – P. 1149–1155.
10. Alloantigen-presenting plasmacytoid dendritic cells mediate tolerance to vascularized grafts / J. C. Ochando [et al.] // *Nat. Immunol.* – 2006 Jun. – Vol. 7, N 6. – P. 652–662.
11. Liu, Y. J. Dendritic cell subsets and lineages, and their functions in innate and adaptive immunity / Y. J. Liu // *Cell.* – 2001 Aug. – Vol. 106, N 3. – P. 259–262.
12. Increased influx of myeloid dendritic cells during acute rejection is associated with interstitial fibrosis and tubular atrophy and predicts poor outcome / K. Zuidwijk [et al.] // *Kidney Int.* – 2012 Jan. – Vol. 81, N 1. – P. 64–75.

Поступила 10.04.2020 г.

Принята в печать 01.06.2020 г.

pone.0129279

7. Re(de)fining the dendritic cell lineage / A. T. Satpathy [et al.] // *Nat. Immunol.* – 2012 Dec. – Vol. 13, N 12. – P. 1145–1154.
8. Colonna M, Trinchieri G, Liu YJ. Plasmacytoid dendritic cells in immunity. *Nat Immunol.* 2004;5:1219-26.
9. Gilliet M, Liu YJ. Human plasmacytoid-derived dendritic cells and the induction of T-regulatory cells. *Hum Immunol.* 2002 Dec;63(12):1149-55. doi: 10.1016/s0198-8859(02)00753-x
10. Ochando JC, Homma C, Yang Y, Hidalgo A, Garin A, Tacke F, et al. Alloantigen-presenting plasmacytoid dendritic cells mediate tolerance to vascularized grafts. *Nat Immunol.* 2006 Jun;7(6):652-62. doi: 10.1038/ni1333
11. Liu YJ. Dendritic cell subsets and lineages, and their functions in innate and adaptive immunity. *Cell.* 2001 Aug;106(3):259-62. doi: 10.1016/s0092-8674(01)00456-1
12. Zuidwijk K, de Fijter JW, Mallat MJK, Eikmans M, van Groningen MC, Goemaere NN, et al. Increased influx of myeloid dendritic cells during acute rejection is associated with interstitial fibrosis and tubular atrophy and predicts poor outcome. *Kidney Int.* 2012 Jan;81(1):64-75. doi: 10.1038/ki.2011.289

Submitted 10.04.2020

Accepted 01.06.2020

Сведения об авторах:

Зыблева С.В. – к.м.н., ученый секретарь, врач-иммунолог, Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3061-5324>;

Зыблев С.Л. – к.м.н., доцент, врач-хирург хирургического отделения (трансплантации, реконструктивной и эндокринной хирургии), Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0968-6630>.

Information about authors:

Zybleva S.V. – Candidate of Medical Sciences, academic secretary, immunologist, Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3061-5324>;

Zyblev S.L. – Candidate of Medical Sciences, associate professor, surgeon of the surgical department (transplantation, reconstructive and endocrine surgery), Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology,

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0968-6630>.

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 246000, г. Гомель, ул. Ильича, 290, Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, научный отдел. E-mail: zyb-svetlana@yandex.by – Зыблева Светлана Валерьевна.

Correspondence address: Republic of Belarus, 246000, Gomel, 5 Iliche str., Republican Research Center for Radiation Medicine and Human Ecology, Scientific Department. E-mail: zyb-svetlana@yandex.by – Svetlana V. Zybleva.